

ANTIBACTERIAL ACTIVITY TESTING OF COLLASE LEAF EXTRACT (*Centella asiatica L.*) AGAINST *Propionibacterium acnes*BACTERIA

Bentar Jatmiko¹⁾, Gigih Kenanga Sari²⁾, Mingle A Pistanty³⁾

ABSTRACT

*Published Online
December 20, 2023
This online publication has
been corrected*

Authors

- 1) An Nuur University
and
bentarjamiko99@gmil.
com
- 2) An Nuur University
and
giglikenangasariapt@
gmail.com
- 3) An Nuur University
and
minglepistany@gmail
.com

doi: -

Background: *Propionibacterium acnes* or *P.acnes* is a normal skin flora bacteria, but can be the cause of opportunistic infections in the form of acne. Generally, acne is treated using antibacterials aimed at reducing the colonization of bacteria. The centtella asiatica plant (*Centtella asiatica*) is a plant of one genus as *Centella*. Research shows that leaf ethanol extract (*Centtella asiatica*) has antibacterial activity. **Purpose:** This study aims to determine the antibattery activity of *Centella asiatica* leaf extract against *Propionibacterium acnes* and adequate concentration in inhibiting the growth of *Propionibacterium acnes*. **Method:** *Centella asiatica* leaves (*Centtella asiatica*) were extracted by maceration method using 70% ethanol solvent. The dieprolwh extract was carried out phytochemical tests and antibacterial activity tests with the well method against *Propionibacterium acnes*. Clindamycin positive control 20 μ g, DMSO negative control 10%. **Results:** Phytochemical test of ethanol extract of centtella asiatica leaves containing:

Keywords: Antibacterial, *Centella asiatica* leaf ethanol extract, *Propionibacterium acnes*.

Correspondence to:

Name : Bentar Jatmiko
Institusi : An Nuur
University
Address Email:
bentarjamiko99@gmil.com
Phone: 0882-2788-7103

PENDAHULUAN

Centella asiatica dapat digunakan sebagai antioksidan, antigastritis, antitumor, penyembuhan luka, imunomodulator, antiproliferasi, antibakteri dan sebagainya Belwal T (2019). Salah satu penggunaan tanaman obat dapat digunakan untuk mengobati masalah jerawat, Jerawat atau acne vulgaris adalah penyakit peradangan kronik kelenjar pilosebasea organisme utama yang pada umumnya memberi kontribusi terhadap terjadinya jerawat adalah *Propionibacterium acnes*. *Propionibacteriu acnes* adalah bakteri gram positif yang memiliki bentuk sel batang, panjang bervariasi antara 1-1,5 μm , nonmotil, tidak membentuk spora dan dapat tumbuh di udara dan memerlukan oksigen mulai dari aerob atau anaerob fakultatif sampai ke anaerob. Bakteri *Propionibacterium acnes* mampu melakukan fermentasi glukosa sehingga menghasilkan asam propionat dan asetat dalam jumlah yang banyak Narulita (2017).

METODE

1. Determinasi

Tahap pertama dalam penelitian ini adalah melakukan determinasi daun pegagan (*Centella asiatica*). Determinasi ini dimaksudkan untuk membandingkan suatu tumbuhan dengan tumbuhan yang lain yang sudah dikenal sebelumnya (dicocokkan). Kunci determinasi adalah

petunjuk yang digunakan untuk menentukan spesies tumbuhan menggunakan ciri yang bersifat spesifik (morfologi) yang tidak dimiliki oleh tumbuhan lainnya (Izza, 2018).

2. Pengolahan sampel dan pengeringan bahan

pengumpulan bahan yang dilakukan pada daun yaitu dimulai dari pengambilan daun pegagan (*Centella asiatica (L.)*) dipetik dengan tangan satu persatu secara acak, kemudian dilakukan sorasi basah untuk memisahkan cemaran (kotoran dan bahan asing lain) dari bahan simplisia. Tahap selanjutnya pencucian, pencucian dilakukan dengan air bersih. Kemudian daun pegagan (*Centella asiatica (L.)*) yang telah dibersihkan, dirajang. pengeringan, sortasi kering, perajangan dapat dilakukan dengan pisau, pengeringan menggunakan panas matahari hingga daun pegagan kering, daun pegagan yang sudah kering kemudian diblender sampai halus, kemudian diayak, serbuk daun pegagan diuji organoleptiknya dengan mengamati, warna, bentuk, rasa, bau

3. Uji Organoleptis

Uji organoleptis dilakukan untuk mengetahui kebenaran simplisia menggunakan panca indera dengan mendeskripsikan bentuk, warna, bau, dan rasa (Fitri,2022)

4. Penentuan Susut Pengeringan

Ekstrak diratakan dalam botol timbang dengan menggoyangkan botol hingga lapisan

5 sampai 10 mm. Ekstrak ditimbang sebanyak 1- 2 gram dalam botol timbang tertutup yang sebelumnya dipanaskan pada suhu 105°C selama 30 menit dan telah ditara, biarkan botol dalam keadaan tertutup untuk dingin dalam eksikator hingga suhu kamar, kemudian masukan ke dalam ruang pengering, buka tutup dan keringkan pada suhu 105°C hingga bobot tetap. Susut pengeringan < 0,25% dihitung dalam nilai persen (Djoko,2020).

5. Pembuatan Ekstrak Daun Pegagan

Daun pegagan yang telah dikeringkan, kemudian dihaluskan. Menimbang bobot serbuk daun pegagan sebanyak 100 gram dan mencampurnya dengan pelarut etanol 70% sebanyak 1500 ml dengan perbandingan 1:7,5. Memaserasi serbuk daun pegagan dengan pelarut didiamkan selama 2 hari. Dalam proses perendaman dilakukan penggojogan minimal 3x dalam sehari. Hasil dari proses perendaman disaring kemudian dipekatkan dengan menggunakan Vacum Rotary evaporator pada suhu 40°C hingga diperoleh ekstrak kental (Manu, 2013). Ekstrak pekat dimasukkan wadah yang steril (Rahmawati, 2017). Setelah didapatkan ekstrak pekat, lalu diencerkan dengan konsentrasi 20%, 30%, dan 40%.

6. Uji Bebas Etanol

Uji bebas etanol pada ekstrak daun pegagan (*centella asiatica*)

dilakukan dengan cara, Ekstrak etanol daun pegagan (*centella asiatica*) ditambah beberapa tetes H²SO⁴ pekat dan CH³COOH, kemudian dipanaskan. Tidak adanya bau khas ester menunjukkan hasil negatif (Kurniawati, 2015).

7. Uji Skrining Fitokimia

Uji skrining fitokimia ekstrak daun pegagan (*centella asiatica*) bertujuan untuk melihat kandungan senyawa metabolit sekunder yang terkandung didalamnya meliputi Uji flavonoid, saponin dan tannin.

8. Persiapan Media Dan Pembuatan Bakteri

a. Sterilisasi

Seluruh alat yang akan digunakan dicuci bersih terlebih dahulu dan dikeringkan. Alat-alat kemudian di detoks dengan cara direbus pada air mendidih yang telah dicampur dengan tepol dan kemudian dikeringkan menggunakan oven pada suhu 180°C selama 15 menit. Tutup mulut tabung reaksi, gelas ukur, dan Erlenmeyer menggunakan kapas yang dibalut kasa kemudian dibungkus dengan kertas payung, kemudian bungkus Cawan petri dengan kertas payung. Sterilisasi dilakukan pada autoklaf pada suhu 121° C tekanan 1 atm selama 15 menit. Jarum ose disterilkan

dengan memijarkan pada api Bunsen (Hapsari, 2018).

b. Inokulasi Bakteri

Prosedur pembuatan media agar darah: Menimbang 40 gram lood Agar Base (Oxoid). Selanjutnya ditambahkan aquades hingga 1000 ml, dan disterilkan dengan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C. Setelah keluar dari autoklaf dibiarkan sampai suhunya mencapai 450 -500C atau hangat kemudian menambahkan darah hewan kelinci steril yang sudah didefibrinasi masing-masing sebanyak 7 % kemudian dituang pada cawan petri masing-masing 9 petri sebanyak 15 ml.

c. MHA (Mueller Hinton Agar)

Mueller Hinton Agar dilakukan dengan menimbang 9,5 gram MHA, masukkan dalam gelas baker berisi aquadest sebanyak 250 mL. MHA dihomogenkan dengan magnetic stirer dan dipanaskan pada hot plate selama ± 20 menit pada suhu 150°C. Media harus benar-benar homogen yang terlihat dari warna kuning bening. Masukkan MHA pada tabung erlenmeyer 500 ml, tutup dengan kapas dan lakukan sterilisasi pada autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C dan tekanan 1,5 atm.

Selanjutnya menyiapkan 3 erlenmeyer kemudian berikan label sesuai dengan perlakuan P1, P2, P3 dan K (kontrol).

9. Pembuatan mc farland

Larutan baku Mc Farland 0,5 terdiri dari dua komponen, yaitu larutan BaCl₂ 1% dan larutan H₂ SO₄ 1%. Sebanyak 0,05 ml larutan BaCl 1% dicampur dengan 9,95 ml larutan H₂ SO₄ 1%. Standar larutan Mc Farland 0,5 ekuivalen dengan suspensi sel bakteri dengan konsentrasi 1,5 × 10⁸ CFU/mL.

10. Pembuatan suspense Bakteri

Sebanyak 2 ose bakteri uji hasil peremajaan, disuspensikan dalam 2 mL NaCl fisiologis dalam tabung reaksi steril dan dihomogenkan dengan vortex selama 15 detik, kemudian kekeruhannya dilihat dengan membandingkan kekeruhan standar 0,5 Mc. Farland I (konsentrasi bakteri 1,5 × 10⁸ CFU/mL).

11. Uji aktivitas bakteri

Uji aktivitas ekstrak daun pegagan dilakukan 3 kali replikasi menggunakan metode difusi cakram dengan perlakuan diantaranya konsentrasi 30%, 50%, 70%, clindamisin sebagai kontrol positif dan DMSO 10µl sebagai kontrol negatif.

Langkah pertama, bersihkan kedua tangan menggunakan alkohol 70%, kemudian suspensi bakteri yang telah dibuat diambil sebanyak 1 ml dengan menggunakan pipet lalu disebar secara merata pada permukaan media yang telah memadat. Media kemudian didiamkan selama beberapa menit sampai usapan pada permukaan mengering (Sari, 2019). Kertas cakram dengan tebal 5 mm direndam dalam larutan uji dan larutan kontrol (positif maupun negatif) masing-masing sebanyak 20 μ l dan didiamkan selama 5 menit, kemudian diangin-anginkan sampai tidak ada larutan yang menetes. Kertas cakram diletakkan diatas permukaan media agar, jarak kertas cakram antara satu dengan yang lainnya sebesar 3 cm dan dari tepi media sebesar 2 cm (Waluyo, 2004). Cawan petri dibungkus dengan kertas payung dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Aktivitas antibakteri diamati dengan mengukur diameter daerah hambat yang ditunjukkan dengan zona bening yang dibentuk di sekeliling kertas cakram menggunakan jangka sorong (mm)

HASIL DAN PEMBAHASAN

- Hasil determinasi menurut MH Van Den. 2020. *Centella asiatica* (PROSEA). Categories *Medicinal plants* (PROSEA). *Plant Resources of Southeast Asia*. tanaman pegagan sudah sesuai dengan literatur (Izza, 2018) dapat disimpulkan bahwa tanaman tersebut merupakan tanaman daun pegagan.
- Pengambilan daun pegagan *Centella asiatica* (L.) di dapat di area persawahan Desa Kemloko, Kecamatan Godong, kabupaten Grobogan. Jumlah daun pegagan yang digunakan sebanyak 5kg daun. Pemanenan dipilih tanaman pegagan yang benar-benar sudah pada umur panen yang tepat yaitu 3-4 bulan (Joko sarono, 2012). Proses pencucian dengan air mengalir dilakukan untuk menghilangkan kotoran yang menempel pada daun. (Agfadila 2017)
- Pembuatan Simplisia Daun Pegagan Daun pegagan *Centella asiatica* (L.) dikeringkan dengan sinar matahari selama 5 hari, hal ini bertujuan untuk mengurangi kadar air sehingga

mencegah pertumbuhan bakteri dan jamur, mencegah bekerjanya enzim dan perubahan kimia yang dapat menurunkan mutu. *Centella asiatica* (L.) yang sudah kering dihaluskan dengan mesin blender kemudian diayak dengan ayakan 40 dan ditimbang. (Dewi puspa, 2015)

Berat basah	Berat kering	Rendemen (% b/b)
5000	700	0,14%

4. Ekstraksi Daun Pegagan

Ekstraksi daun pegagan *Centella asiatica* (L.) menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 70% menghasilkan ekstrak kental dan nilai rendemen dibawah ini

Jumlah serbuk (gram)	Bobot ekstrak kental	Rendemen (%)
700	54	7,71%

5. Penetapan Standarisasi Non Spesifik Ekstrak

Penetapan standarisasi non spesifik ekstrak daun pegagan *Centella asiatica* (L.) yang meliputi pengujian susut pengeringan diperoleh hasil sebagai berikut:

Pengujian	Hasil
Susut pengeringan ekstrak	7,41%

6. Identifikasi Kandungan Kimia Ekstrak Etanol Daun Pegagan

Identifikasi kandungan senyawa dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak etanol daun pegagan *Centella asiatica* (L.), diperoleh hasil identifikasi senyawa sebagai berikut:

Senyawa	Metode	Literatur	hasil
1. Flavonoid	Etanol H_2SO_4	Merah	+
2. Saponin	Pembentukan busa	Terbenutuk busa stabil	+
3. Tannin	FeCl3	Hijau kehitaman	+

7. Uji Bebas Etanol

Uji bebas etanol dilakukan terhadap fraksi etanol daun pegagan *Centella asiatica* (L.), diperoleh hasil pengujian sebagai berikut:

Sampel	Metode	Literatur	hasil
		kurniawa 1 ti, (2015)	
Fraksi etanol	$H_2SO_4+CH_3COOH$ OH	Tidak tercium bau ester	-

8. Pengujian Aktivitas Antibakteri

Etol Daun Pegagan Terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes*

Dari hasil pengujian aktivitas antibakteri fraksi etanol daun pegagan *Centella asiatica* (L.) terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* diperoleh hasil yang menunjukkan terdapatnya zona hambat fraksi etanol dapat dilihat pada tabel dibawah ini:

Perlakuan	Zona hambat (mm)			Rata-rata (mm) SD	Ket.
	I	II	III		
Control +	5,67	4,78	6,34	5,59±0,78	Sedang
Control -	0	0	0	0	-
30%	7,80	7,34	7,75	7,67±0,25	Sedang
50%	8,37	7,31	8,10	7,92±0,55	Sedang
70%	8,50	7,93	8,27	8,27±0,30	Sedang

Keterangan :

(+) : kelompok control positif yang diberi klindamisin 10 µg
(-) : kelompok control negatif yang diperlukan DMSO 10

SIMPULAN

Dari hasil penelitian yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa :

1. Kandungan senyawa aktif yang terdapat dalam ekstrak daun pegagan terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* Flavonoid, Saponin, Tanin.
2. Diketahui bahwasanya ekstrak daun pegagan memiliki potensi antibakteri terhadap bakteri *Propionibacterium*

acnes dengan terbentuknya zona hambat pada media uji.

3. Nilai diameter zona hambat ekstrak daun pegagan terhadap aktivitas antibakteri *Propionibacterium acnes* memiliki konsentrasi daya 30% diperoleh rata-rata $7,67\pm0,25$ mm. Fraksi etanol konsentrasi 50% diperoleh rata-rata zona hambat $7,92\pm0,55$ mm. Fraksi etanol konsentrasi 70% diperoleh rata-rata zona hambat $8,27\pm0,30$ mm.

DAFTAR PUSTAKA

Amalia, S., Wahdaningsih, S. dan Untari, E. K., 2014, Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi n-Heksan Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus* Britton & Rose) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, Trad. Med. J., Vol. 19 (2) ISSN: 1410-5918, p. 89-94.

Aulia Rahmaniati M, Maria Ulfah, Dewi Andini Kunti Mulangsari, T 2018 STANDARISASI PARAMETER NON SPESIFIK EKSTRAK ETANOL DAUN PEGAGAN (Centella asiatica L.) DI DUA TEMPAT TUMBUH, Fakultas Farmasi,

- Universitas Wahid Hasyim
Jl. Menoreh Tengah X/ 22
Sampangan Semarang.
- Dewatisari, W. F., Rumiyanti, L., & Rakhmawati, I. (2018). Rendemen dan Skrining Fitokimia pada Ekstrak Daun Sansevieria sp. Jurnal Penelitian Pertanian Terapan, 17(3), 197-202. pendidikan biologi Fakultas Pendidikan Matematika dan Pengetahuan Alam Universitas Lampung
- Dwi putri rahmawati Tahun 2017, PENGARUH WAKTU SUHU PENYIMPANAN TERHADAP AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK DAUN SEMBUNG (*Bluemmea balsamifera* L.) FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN PROGRAM STUDI FARMASI UNIVERSITAS ISLAM NEGERI SYARIF HIDAYATULLAH JAKARTA.
- Dewi Rahma Fitri, In Rahmi Fatria Fajar, Siti Khoiri'atun Nikmah , Dedri Syafei, Tahun 2022, FORMULASI LOSION ANTINYAMUK EKSTRAK ETANOL 70% BUAH KAWISTA SEBAGAI ZAT AKTIFProgram Studi Farmasi, Institut Sains Dan Teknologi Al-kamal, Jl. Kedoya Raya No 2, Jakarta Barat, 11520, Indonesia
- Evi Kurniawati 2015. DAYA ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL TUNAS BAMBU APUS TERHADAP BAKTERI Escherichia coli dan Staphylococcus aureus SECARA IN VITRO Analisa Farmasi Universitas Airlangga Surabaya
- Hargono D, Lastari P, Astuti Y, Van den Bergh MH. *Centella asiatica* (L.) Urb. [Internet]. PROSEA (Plant Resources of South-East Asia) Foundation. 1999; 190-4 [dikutip 10 November 2016]. . Tersedia pada: http://proseanet.org/prosea/eprosea_detail.php?frt=&id=68.
- Hasanah N, Novian, R. D, T 2020, Daya Hambat Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) Terhadap Bakteri Penyebab Jerawat (*Propionibacterium acnes*) Program Studi DIII

- Farmasi Universitas Nusa Cendana.
- Heti Rais Khasanah, Diah Eka Nugraheni
Tahun 2021 UJI AKTIVITAS ANTIMIKROBA EKSTRAK ETANOL BIJI KEBIUL (CAESALPINIA BONDUS (L.) ROXB) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI STAPHYLOCOCCUS AUREUS Prodi Farmasi, Poltekkes Kemenkes Bengkulu
- I Made Dwijendra, Defny Silvia Wewengkang, Frenly Wehantou (2014). AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN KARAKTERISASI SENYAWA FRAKSI SPONS *Lamellodysidea herbacea* YANG DIPEROLEH DARI TELUK MANADO FMIPA UNSRAT Manado, 95115.
- Joko sarono, T 2012 BUDIDAYA TANAMAN PEGAGAN (*Centella asiatica* L) DAN MANFAATNYA DALAM KEHIDUPAN SEHARI-HARI (DI UPT MATERIA MEDICA BATU, MALANG) Program Studi DIII Universitas Sebelas Maret Fakultas pertanian Surakarta.
- Kalangi, S. J. 2013. Histofisiologi Kulit. Manado: Fakultas Kedokteran Universitas Sam Ratulangi.
- Kurniawati, Evi. 2015. Daya Hambat Ekstrak Etanol Tunas Bambo Apus Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* secara In Vitro. Jurnal wijata.
- Mauritz Pandapotan Marpaung, Anggun Septiyani Tahun 2020, PENENTUAN PARAMETER SPESIFIK DAN NONSPESIFIK EKSTRAK KENTAL ETANOL BATANG AKAR KUNING (Fibraurea chloroleuca Miers)Program Studi S1 Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Kader Bangsa, Palembang, Indonesia.
- MH van den. 2020. *Centella asiatica* (PROSEA). Categories:Medicinal plants (PROSEA). Plant Resources of Southeast Asia.

Muhammad Adiyaksa Febryanto Tahun 2017, STUDI EKSTRAKSI DENGAN METODE SOXHLETASI PADA BAHAN ORGANIK UMBI SARANG SEMUT (<i>Myrmecodia pendans</i>) SEBAGAI INHIBITOR ORGANIK, DEPARTEMEN TEKNIK MATERIAL DAN METALURGI FAKULTAS TEKNOLOGI INDUSTRI INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER SURABAYA.	Ilmu Kesehatan UIN Alauddin Makassar.
MUCHAMMAD IRSYAD, Tahun 2013 STANDARDISASI EKSTRAK ETANOL TANAMAN KATUMPANGAN AIR (<i>Peperomia pellucida</i> L. Kunth) FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN PROGRAM STUDI FARMASI JAKARTA.	Nurhayati, T, D. Aryanti, dan Nurjanah. 2013. Kajian Awal Potensi Ekstrak Spons Sebagai Antioksidan. Jurnal Kelautan Nasional. 2(2):43-51. Nur Hasanah , Dede Rival Novian 2020) Analisis Ekstrak Etanol Buah Labu Kuning (<i>Cucurbita Moschata</i> D.) Program Studi DIII Farmasi STIKes Kharisma Persada.
Mukhriani, Tahun 2014. EKSTRAKSI, PEMISAHAN SENYAWA, DAN IDENTIFIKASI SENYAWA AKTIF. Program Studi Farmasi	Sutardi. 2016. Kajian waktu panen dan pemupukan fosfor terhadap pertumbuhan dan produksi asiatisida tanaman pegagan (<i>Centella asiatica</i> L. Urban) di dataran tinggi. Tesis. Program Studi Agronomi, Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.
	Saifudin dkk, T 2015, KARAKTERISASI EKSTRAK ETANOL HERBA KATUMPANGAN AIR (<i>Peperomia pellucida</i> L. Kunth), Program Studi Farmasi, UIN Syarif Hidayatullah, Jakarta, Indonesia.

- Sariyem, Sadimin, Prasko Tahun 2013
Efektivitas Sterilisasi Infra Merah dan Dry Heat
Sterilisasi Terhadap Sterilisasi Alat-alat Kedokteran Gigi, Fakultas Keperawatan Gigi Poltekkes Kemenkes Semarang.
- Wulandari RA, Azrianingsih R. Etnobotani jamu gendong berdasarkan persepsi produsen jamu gendong di Desa Karangrejo, Kecamatan Kromengan, Kabupaten Malang. Biotropika. 2014;2(4):198-202.
- Yudistira, F. A., Sri, M., Pratiwi, T. 2013, Potensi Antimikroba Ekstrak Air Daun Kelor (*Moringa oefera*) terhadap *Salmonella enteridis* (SP1-PKH) secara In Vitro, Program Studi Dokter Hewan, Program Kedokteran Hewan, Universitas Brawijaya.